

世界知的所有権機関  
国際事務局



PCT

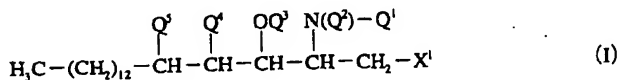
特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C07C 215/10, 229/22, 271/22, 215/24, 229/30, C07D 263/06</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO98/40349</p> <p>(43) 国際公開日 1998年9月17日 (17.09.98)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/01038</p> <p>(22) 国際出願日 1998年3月12日 (12.03.98)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平9/79094 1997年3月12日 (12.03.97) 特願平9/267969 1997年9月11日 (11.09.97)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 寶酒造株式会社(TAKARA SHUZO CO., LTD.)(JP/JP) 〒612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および</p> <p>(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 竹迫一任(TAKESAKO, Kazutoh)(JP/JP) 〒520-0822 滋賀県大津市秋葉台4-20-208 Shiga, (JP) 黒目 徹(KUROME, Toru)(JP/JP) 〒525-0025 滋賀県草津市西渡川2丁目12-1 ハーモバレス草津507号 Shiga, (JP) 栗津尚之(AWAZU, Naoyuki)(JP/JP) 〒525-0025 滋賀県草津市西渡川2丁目12-1 ハーモバレス草津107号 Shiga, (JP) 加藤郁之進(KATO, Ikunoshin)(JP/JP) 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1-1-150 Kyoto, (JP)</p>	<p>(74) 代理人 弁理士 安富康男, 外(YASUTOMI, Yasuo et al.) 〒532-0011 大阪府大阪市淀川区西中島5丁目14番22号 リクルート新大阪ビル4階 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AU, CA, CN, JP, KR, MX, US, VN, ユーラシア 特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書 請求の範囲の補正の期限前であり、補正査受領の際には再公 開される。</p>	
<p>(54)Title: SPHINGOSINE ANALOGUES</p> <p>(54)発明の名称 スフィンゴシン類縁化合物</p> <p>(57) Abstract</p> <p>Novel sphingosine analogues useful as intermediates for the synthesis of novel lipid derivatives such as sphingolipid derivatives controlling the function of sphingolipid. The sphingosine analogues are represented by general formula (I), wherein Q<sup>1</sup> and Q<sup>2</sup> are each independently hydrogen, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alkyl, C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> acyl or an amino-protecting group and Q<sup>3</sup> is hydrogen or a hydroxyl-protecting group, or alternatively Q<sup>2</sup> and Q<sup>3</sup> are united to form isopropylidene and Q<sup>1</sup> is hydrogen or an amino-protecting group; Q<sup>4</sup> and Q<sup>5</sup> are each independently hydroxyl, C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub> acyl, -O-Q<sup>6</sup> or hydrogen, or alternatively Q<sup>4</sup> and Q<sup>5</sup> may be united to form a covalent bond; Q<sup>6</sup> is a hydroxyl-protecting group; X<sup>1</sup> is -COOH, -CONH<sub>2</sub>, -CO-Q<sup>7</sup>, -CH<sub>2</sub>OH or -CH<sub>2</sub>O-Q<sup>8</sup>; Q<sup>7</sup> is a carboxyl-protecting group; and Q<sup>8</sup> is a hydroxyl-protecting group.</p> <div style="text-align: center;"> <math display="block">\text{H}_2\text{C}-(\text{CH}_2)_{12}-\overset{\text{Q}^1}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{Q}^2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{OQ}^3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\overset{\text{N}(\text{Q}^4)-\text{Q}^5}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{X}^1 \quad (I)</math> </div>		

(57) 要約

本発明は、スフィンゴ脂質の機能を調節することができるスフィンゴ脂質誘導体等の新規な脂質誘導体の合成中間体として有用な新規スフィンゴシン類縁化合物を提供することを目的とする。

本発明は、下記一般式 (I) で表されるスフィンゴシン類縁化合物である。



式中、 $\text{Q}^1$ 、 $\text{Q}^2$ 、 $\text{Q}^3$  は、 $\text{Q}^1$ 、 $\text{Q}^2$  が同一若しくは異なって、水素、炭素数 1～4 のアルキル基、炭素数 2～5 のアシル基若しくはアミノ基の保護基を表し、 $\text{Q}^3$  が水素若しくはヒドロキシル基の保護基を表すか、又は、 $\text{Q}^2$  と  $\text{Q}^3$  とが一緒になってイソプロピリデン基を表し、 $\text{Q}^4$  が水素若しくはアミノ基の保護基を表す。 $\text{Q}^4$ 、 $\text{Q}^5$  は、同一若しくは異なって、ヒドロキシル基、炭素数 2～5 のアシル基、 $-\text{O}-\text{Q}^6$  若しくは水素を表すか、又は、 $\text{Q}^4$  と  $\text{Q}^5$  とが一緒になって共有結合を表す。 $\text{Q}^6$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。 $\text{X}^1$  は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CO}-\text{Q}^7$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 又は $-\text{CH}_2\text{O}-\text{Q}^8$ を表す。 $\text{Q}^7$  は、カルボキシル基の保護基を表し、 $\text{Q}^8$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード (参考情報)

AL	アルバニア	FR	フランス	LT	リトアニア	SN	セネガル
AM	アルメニア	GB	イギリス	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
AT	オーストリア	GE	ジョージア	MC	モナコ	TD	チャド
AZ	アゼルバイジャン	GR	ギリシャ	MD	モルドバ	TG	トーゴ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GU	グアム	ME	モンテネグロ	TM	タジキスタン
BB	バルバドス	HN	ホンデュラス	MK	マケドニア	TR	トルコ
BE	ベルギー	IE	アイルランド	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BG	ブルガリア	IT	イタリア	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BR	ブラジル	JP	日本	MR	マリタニア	UG	ウガンダ
BS	バハマ	KE	ケニア	MW	マラウイ	US	米国
BV	ベネチア	KG	キルギス	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CA	カナダ	KH	カンボジア	NE	ニジェール	VN	ベトナム
CC	ココス (パーム)	LA	ラオス	NG	ナイジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CD	コンゴ共和国	LC	セント・ルシア	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CE	コートジボワール	LI	リヒテンシュタイン	NZ	ニュージーランド		
CF	中央アフリカ	LK	スリランカ	PL	ポーランド		
CG	コンゴ共和国	LS	レソト	PT	ポルトガル		
CH	スイス			RO	ルーマニア		
CI	コートジボワール			RU	ロシア		
CM	カメルーン			SD	スーダン		
CN	中国			SE	スウェーデン		
CO	コロンビア			SG	シンガポール		
CR	コスタリカ			SI	スロベニア		
CU	キューバ			SK	スロバキア		
CY	キプロス			SL	シエラ・レオネ		
DE	ドイツ						
DK	デンマーク						
EE	エストニア						
ES	スペイン						

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

## 明細書

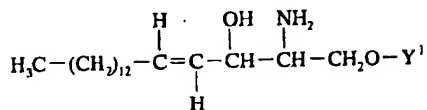
### スフィンゴシン類緑化合物

#### 技術分野

本発明は、真菌感染症、アレルギー疾患等の治療剤として有用な T K R 1 7 8 5 類又はその誘導体の合成中間体として有用であり、また、新規スフィンゴ脂質類緑体の合成中間体として有用である新規スフィンゴシン類緑化合物に関する。また、本発明は、新規スフィンゴ脂質の製造方法にも関する。

#### 背景技術

スフィンゴシンは、下記一般式で表される化学構造（式中、Y<sup>1</sup> は、水素である。）を有する化合物であり、これを構成成分として含有する多くのスフィンゴ脂質が、神経系の細胞膜表面を始めとして生体内に広く存在していることが知られている。また、スフィンゴシンのアミノ基に脂肪酸がペプチド結合したセラミドに、更に Y<sup>1</sup> として糖が 1 種類乃至数種類グリコシド結合したスフィンゴ糖脂質や、Y<sup>1</sup> としてりん酸とコリン、エタノールアミン等の塩基とが結合したスフィンゴミエリン等のスフィンゴりん脂質も知られている。



スフィンゴ脂質は、生体内で重要な役割を果たしている脂質の一つであるが、酵素欠損等により代謝系に異常が生じた場合、特定のスフィンゴ脂質が生体内に蓄積し、いわゆるリビドーシスと呼ばれる疾患が起こることも知られている。また、細胞膜に存在するスフィンゴ脂質が有する機作として、細胞増殖調節、相互識別等における機能；発生、分化における機能；神経機能；感染や細胞の悪性化等への関与等が注目されているが、これらの機作についての生理的意義は不明な

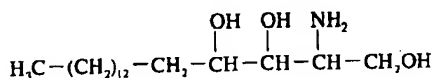
WO 98/40349

PCT/JP98/01038

2

点が多い。近年、スフィンゴシン誘導体の一つであるセラミドが細胞のシグナル伝達機構に重要な役割を演じている可能性が指摘され、アポトーシスや細胞周期に対する作用等が活発に研究されている。

スフィンゴ脂質は、真菌や植物にも存在しており、これらに存在するスフィンゴシンは、下記式で表される化学構造を有するものが主である。これらの脂質は、真菌や植物の細胞増殖において重要な機能を果たしていることが知られているが、詳細な役割はいまだ明らかにされていない。



最近では、スフィンゴ脂質の誘導体やその関連化合物が代謝系を阻害又は促進することによって各種の生理活性を発揮することが知られるようになった。これらのなかには、プロテインキナーゼC阻害物質、アポトーシス誘発物質、免疫抑制物質、抗真菌性物質等がある。このような生理活性を発揮するような物質は、各種の疾患に対して有効な化合物として期待されている。

#### 発明の要約

本発明は、上記の現状に鑑み、スフィンゴ脂質の機能を調節することができるスフィンゴ脂質誘導体等の新規な脂質誘導体の合成中間体として有用な新規スフィンゴシン類縁化合物を提供することを目的とするものである。

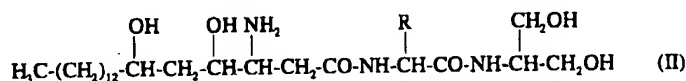
本発明者らは、新規な生理活性物質の探索を目的として、多数の微生物を自然界より分離し、該微生物が産生する生理活性物質を単離し、生物学的性質を調べたところ、ペニシリウム (Penicillium) 属に属する微生物の培養物中に、カンジダ (Candida)、アスペルギルス (Aspergillus)、クリプトコッカス (Cryptococcus)、マラセチア (Malassezia) 等の病原性真菌に対して抗菌活性を示す新規な生理活性物質 TKR 1785 類が存在していることを見いだした。また、本発明者らは、TKR 1785 類がアレルギー反応に関与する酵素の阻害活性を有することを見いだした。

WO 98/40349

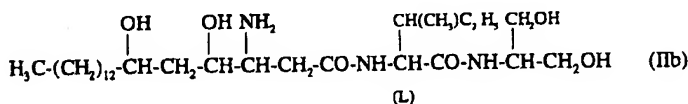
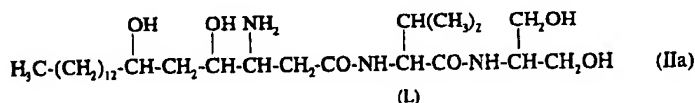
PCT/JP98/01038

3

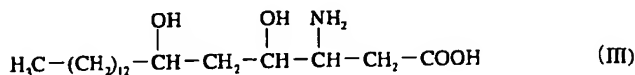
本明細書中、TKR1785類とは、下記一般式（I I）で表される化合物である。上記TKR1785類としては、例えば、下記式（I I a）で表されるTKR1785-I、又は、下記式（I I b）で表されるTKR1785-I Iが挙げられる。



（式中、Rは $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ 又は $\text{CH}(\text{CH}_3)_2\text{C}_2\text{H}_5$ である）



本発明者らは、上記TKR1785類を加水分解することにより、下記式（I I I）で表される新規なスフィンゴシン類縁化合物を調製することに成功し、更に、この化合物がTKR1785類の合成に有用な中間体であることを明らかにした。



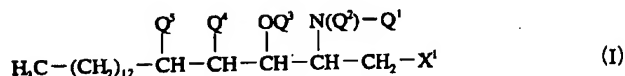
また、本発明者らは、上記式（I I I）で表される化合物を代表とする下記一般式（I）で表される化合物群が、新規なスフィンゴ脂質類縁体の生理活性物質を合成するのに有用な中間体であることを明らかにし、本発明を完成するに至

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

4

った。



式中、 $\text{Q}^1$ 、 $\text{Q}^2$ 、 $\text{Q}^3$  は、 $\text{Q}^1$ 、 $\text{Q}^2$  が同一若しくは異なって、水素、炭素数 1～4 のアルキル基、炭素数 2～5 のアシル基若しくはアミノ基の保護基を表し、 $\text{Q}^3$  が水素若しくはヒドロキシル基の保護基を表すか、又は、 $\text{Q}^2$  と  $\text{Q}^3$  とが一緒になってイソプロピリデン基を表し、 $\text{Q}^4$  が水素若しくはアミノ基の保護基を表す。 $\text{Q}^4$ 、 $\text{Q}^5$  は、同一若しくは異なって、ヒドロキシル基、炭素数 2～5 のアシル基、 $-\text{O}-\text{Q}^6$  若しくは水素を表すか、又は、 $\text{Q}^4$  と  $\text{Q}^5$  とが一緒になって共有結合を表す。 $\text{Q}^6$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。 $\text{X}^1$  は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CO}-\text{Q}^7$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 又は $-\text{CH}_2\text{O}-\text{Q}^8$ を表す。 $\text{Q}^7$  は、カルボキシル基の保護基を表し、 $\text{Q}^8$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。

#### 図面の簡単な説明

図 1 は、生理活性物質 TKR1785-I の紫外線吸収スペクトルを示す図である。縦軸は波長 (nm)、横軸は吸光度を示す。

図 2 は、生理活性物質 TKR1785-I の赤外線吸収スペクトルを示す図である。縦軸は透過率 (%)、横軸は波数 ( $\text{cm}^{-1}$ ) を示す。

図 3 は、生理活性物質 TKR1785-I の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを示す図である。縦軸はシグナルの強度、横軸は化学シフト値 (ppm) を示す。

図 4 は、生理活性物質 TKR1785-I の  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルを示す図である。縦軸はシグナルの強度、横軸は化学シフト値 (ppm) を示す。

図 5 は、生理活性物質 TKR1785-I の HPLC での溶出位置を示す図である。縦軸は保持時間 (分)、横軸は相対紫外吸収強度を示す。

図 6 は、生理活性物質 TKR1785-II の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを示す

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

5

図である。縦軸はシグナルの強度、横軸は化学シフト値 (ppm) を示す。

図 7 は、生理活性物質 TKR1785-III の  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトルを示す図である。縦軸はシグナルの強度、横軸は化学シフト値 (ppm) を示す。

図 8 は、生理活性物質 TKR1785-III の HPLC での溶出位置を示す図である。縦軸は保持時間 (分)、横軸は相対紫外吸収強度を示す。

#### 発明の詳細な開示

以下に本発明を詳述する。

本発明のスフィンゴシン類縁化合物は、上記一般式 (I) で表される。

上記炭素数 1~4 のアルキル基としては特に限定されず、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、i-プロピル基、n-ブチル基、t-ブチル基等を挙げることができる。

上記炭素数 2~5 のアシル基としては特に限定されず、例えば、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、バレリル基等を挙げることができる。

上記アミノ基の保護基としては特に限定されず、例えば、t-ブトキシカルボニル (Boc) 基、トリクロロエトキシカルボニル (Troc) 基等を挙げることができる。

上記ヒドロキシル基の保護基としては特に限定されず、例えば、ベンジル (Bzl) 基、アセチル基、メチル基、トリメチルシリル基等を挙げることができる。

上記  $\text{Q}'$  は、カルボキシル基の保護基を表す。上記カルボキシル基の保護基としては特に限定されず、例えば、フェナシル (Pac) 基、Bzl 基等を挙げることができる。

上記  $\text{Q}^{\circ}$  及び上記  $\text{Q}^{\circ}$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。上記ヒドロキシル基の保護基としては特に限定されず、例えば、上述したもの等を挙げることができる。

上記スフィンゴシン類縁化合物としては、上記一般式 (I) で表すことができる化合物であればよく、例えば、後に示す表 1 に記載した化合物等を挙げることができる。

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

6

表1に化合物(1)で示される上記式(III)で表される化合物は、ヒドロキシル基及びアミノ基を、酸無水物、酸クロリド等を用いて、常法によりアシル化合物へ変換することができる。また、上記式(III)で表される化合物は、アミノ基を水素化ナトリウムとヨウ化アルキル等を用いてN-アルキル化物へ変換することができる。更に、上記式(III)で表される化合物は、カルボキシル基をメチル化後、アンモノリシスによりアミドへ変換したり、水素化リチウムアルミニウム(LiAlH<sub>4</sub>)、水素化ホウ素ナトリウム(NaBH<sub>4</sub>)等によって還元することによりアルコールに変換することができる。

上記式(III)で表される化合物は、選択的に反応させたり、適当な保護基を利用することにより、上記式(III)で表される化合物が有するヒドロキシル基、アミノ基、カルボキシル基のなかから選択的に特定の官能基を修飾し、上記式(III)で表される化合物以外の上記一般式(I)で表される化合物に変換することができる。この場合においては、ペプチド合成において広く利用されている各種の保護基を適宜利用することができる。このような保護基として上述したアミノ基保護基、カルボキシル基保護基、ヒドロキシル基保護基等を利用することができる。

上記保護基は、必要に応じて、各々対応する公知の脱離反応又はこの反応を応用した脱離反応により脱離され、目的物に変換される。上記保護基として、異なる条件下で脱離可能なものを使用した場合には、上記脱離反応を行うことによって、選択的修飾を容易に行うことができる。例えば、アミノ基の選択的修飾を行うためには、アミノ基をBoc基により保護した後、ヒドロキシル基をアセチル基で保護し、カルボキシル基をメチル基で保護して酸性下に置くことにより、Boc基を選択的に除去脱離させてから有機酸とペプチド結合させ、その後、アルカリ加水分解することによって、アミノ基のみを修飾した化合物を得ることができる。このとき、カルボキシル基をヒドロキシル基に変換したものを原料として使用し、ヒドロキシル基をアセチル基で保護しておく、セラミド類似化合物を得ることができる。

本発明の上記一般式(I)で表される化合物のうち、上記式(III)で表される化合物は、上記一般式(II)で表されるTKR1785類、例えば、TK

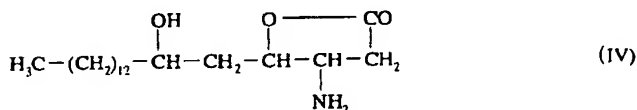


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

7

R 1 7 8 5 - I 又は T K R 1 7 8 5 - I I を加水分解することにより製造することができる。例えば、上記式 (I I a) で表される T K R 1 7 8 5 - I を酸加水分解、例えば、ペプチド結合の加水分解に使用される 6 N - 塩酸中、110℃、一晩処理等の条件で分解後、いったん反応液を中和し、更にアルカリにすることにより得ることができる。ここで得られた化合物を単離する場合には、再度反応液を中和した後、クロロホルムやクロロホルム/メタノールの混合溶媒等の有機溶媒で抽出し、更に必要に応じて、シリカゲルによる吸着クロマトグラフィーや化学結合型シリカゲルによる逆相分配クロマトグラフィーにより精製すればよい。また、T K R 1 7 8 5 - I を上記と同様の条件で酸加水分解した後、そのまま濃縮、精製すると、下記式 (I V) で表されるラクトン体を得ることができる。この化合物を用いて、例えば、B o c 化すれば、アミノ基単独又はアミノ基及びヒドロキシル基の双方に B o c 基を導入することができる。その後、アルカリ加水分解することによって、上記一般式 (I) で表される化合物の 1 種を合成することができる。



更に、上記一般式 (I) において、Q'、Q' が結合した化合物、例えば、上記式 (I I I) で表される化合物において、炭素番号 5 と炭素番号 6 との間が二重結合になった化合物、例えば、後に示す表 1 に化合物 (10) で示された化合物は、上記式 (I V) のラクトン体を濃硫酸による処理やピリジン中塩化チオニルとの反応により脱水後、アルカリ加水分解すれば容易に得ることができる。また、得られた上記式 (I V) の脱水物に濃硫酸を作用させて直接水酸基を導入したり、還元によりエポキシaidとした後、アルカリ加水分解すれば、上記一般式 (I) の Q' に水酸基を有する化合物を得ることができる。

上記 T K R 1 7 8 5 類、すなわち、T K R 1 7 8 5 - I 及び T K R 1 7 8 5 - I I は、ペニシリウム (*Penicillium*) 属に属し、T K R 1 7 8 5 類

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

8

を産生する菌株を培養し、その後、その培養物から単離することにより製造することができる。上記TKR1785類の生産に用いられる菌株としては、例えば、ペニシリウム・エスピー (*Penicillium* sp.) TKR1785株(以下、単に「TKR1785株」という)等を挙げることができる。すなわち、上記TKR1785株を栄養源含有培地に接種し、液体培養することにより、上記TKR1785類を得ることができる。

上記培養は、15～25℃で行うことが好ましく、通常3～11日間培養すれば十分な産生量を得ることができる。培養物中に蓄積されたTKR1785類は、その理化学的性質及び生物学的性質を利用して精製し、取得することができる。上記精製において高速液体クロマトグラフィー法を採用する場合には、担体として、例えば、オクタデシル基、オクチル基、フェニル基等が結合した化学結合型シリカゲル；ポリスチレン系ポーラスポリマーゲル等を使用することができ、移動相としては、例えば、含水メタノール、含水アセトニトリル等の水溶性有機溶媒の含水溶液等を使用することができる。

上記一般式(I)で表される本発明のスフィンゴシン類縁化合物は、TKR1785類又はその誘導体の合成中間体として有用である。例えば、上記式(III)で表される化合物は、TKR1785-I又はその類縁体を合成するための重要中間体として利用可能である。上記式(III)で表される化合物からTKR1785-I又はその類縁体を得る場合には、例えば、後に示すスキーム1に従って合成することによって得ることができる。

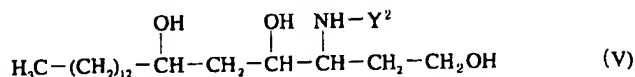
また、上記一般式(I)で表される化合物は、スフィンゴシン類似の脂質として、各種スフィンゴ脂質類縁体の合成に利用することができる。例えば、上記一般式(I)において、X'が-CH<sub>2</sub>OHであり、アミノ基にパルミチン酸等の脂肪酸がペプチド結合したセラミド様の下記一般式(V)で表される化合物にするためには、アミノ基と3個のヒドロキシル基とがそれぞれ別の脱離可能な保護基で保護されたものを原料に用い、アミノ基の保護基のみを脱離させた後、脂肪酸をペプチド結合させ、ついでヒドロキシル基の保護基を脱離させればよい。更に、得られた下記一般式(V)で表される化合物は、上記一般式(I)で表される化合物のQ<sup>8</sup>の位置にガラクトース、グルコース等の単糖又はオリゴ等を結合

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

9

させたスフィンゴ糖脂質類縁体の合成に利用可能である。この場合、 $Q^3$ 、 $Q^5$ 、 $Q^8$ を異なる条件で脱離可能なヒドロキシル基保護基で保護しておけば、 $Q^8$ の保護基のみを選択的に脱離させることができ、スフィンゴ糖脂質類縁体の合成に利用することができる。



式中、 $Y^2$ は、ミリスチル基(C14:0)、パルミトイル基(C16:0)、ステアロイル基(C18:0)、オレオイル基(C18:1)又はリグノセロイル基(C24:0)等の脂肪酸アシル基を表す。

本発明のスフィンゴシン類縁化合物は、更にまた、免疫活性抑制、癌細胞に対する細胞毒性を有しており、医薬品としての有用性も有している。

発明を実施するための最良の形態

以下に実施例を掲げて本発明を更に詳しく説明するが、本発明はこれら実施例のみに限定されるものではない。

#### 参考例1 TKR1785-I及びTKR1785-IIの調製

TKR1785株(FERM BP-5788)の斜面培養から一白金耳を100mlの液体培地〔ディフコイーストナイトロジェンベース0.67%(w/v)、グルコース2.0%(w/v)〕を入れた500ml容の三角フラスコに接種し、25℃で5日間振とうし、種培養液を得た。この種培養液1.0mlを上記液体培地125mlを入れた500ml容の三角フラスコ18本に接種し、25℃、9日間振とう培養(振とう220rpm)を行った。このようにして得た培養液を遠心分離し、上澄み液と菌体とに分離した。得られた菌体にメタノール1Lを加えて充分混合して抽出操作を行った後、減圧濃縮を行った。得られた残渣に水を300ml加えて充分混合した後、pHを2に調整した。これに酢酸

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

10

エチルを300ml加えて充分混合し、酢酸エチル洗浄操作を行った。この水層のpHを9に調整し、酢酸エチルを300ml加えて抽出操作を行った。この抽出液を減圧濃縮し、残渣52mgを得た。これをメタノール0.4mlに溶解し、高速液体クロマトグラフィーに付し、2つの活性画分I及びIIを得た。それぞれの画分を減圧濃縮することにより、TKR1785-Iの精製物16mg及びTKR1785-IIの精製物3mgを白色粉末として得た。なお、高速液体クロマトグラフィーの条件は、下記によった。

装置：LC8A（島津製作所社製）

カラム：YMCpack C18（2.0cm×25cm）（ワイエムシー社製）

移動相：0.05%トリフルオロ酢酸を含む55%（v/v）アセトニトリル／水

### 理化学的性質

質量分析には、JMS-DX302型質量分析装置（日本電子社製）を用いた。<sup>1</sup>H-NMRスペクトル（重ジメチルスルホキシド中、標準物質：重ジメチルスルホキシド）及び<sup>13</sup>C-NMRスペクトル（重ジメチルスルホキシド中、標準物質：重ジメチルスルホキシド）の測定には、JNM-A500核磁気共鳴装置（日本電子社製）を用いた。紫外線吸収スペクトル分析（メタノール中）には、UV-250型自記分光光度計（島津製作所社製）を用いた。赤外線吸収スペクトル分析（KBr法）には、270-30型赤外分光光度計（日立製作所社製）を用いた。アミノ酸分析には、L-8500型（日立製作所社製）を用いた。

以下にTKR1785-Iの理化学的性質を述べる。

高速液体クロマトグラフィーに付し、得られた活性画分Iを減圧濃縮することにより得られた白色粉末精製物は、質量分析によるFAB-MS測定で、m/z 518 [M+H]<sup>+</sup>であることが判明した。本物質についての<sup>1</sup>H-NMRスペクトル測定及び<sup>13</sup>C-NMRスペクトル測定並びにその解析により、炭素数27であり、窒素数3であることが判った。<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを図3に、<sup>13</sup>C-NMRスペクトルを図4に示した。更に、本物質のメタノール中における紫外

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

11

線吸収スペクトルは、図1に示すように、末端吸収を示すことが判った。本物質のKBr法による赤外線スペクトル測定結果は、下記のとおりであった。赤外線吸収スペクトルを図2に示した。

IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ) : 3410、2920、2850、1670、1540、1470、1210、1140、1050、840、800、720。

また、本物質の各種溶媒に対する溶解性は、メタノール、水に可溶、クロロホルム、ヘキサンには難溶であった。

上記分析結果により、高速液体クロマトグラフィーに付し、得られた活性画分Iを減圧濃縮することにより得られた白色粉末精製物は、TKR1785-Iであることが判明した。また、図3の $^1\text{H}$ -NMRスペクトル及び図4の $^{13}\text{C}$ -NMRスペクトルについて詳細に解析したところ、TKR1785-Iは、式(I Ia)の化学構造を有することが明らかとなった。

TKR1785-IをLC-10A型高速液体クロマトグラフィー装置（島津製作所社製）を用いた逆相分配高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による分析に供した。なお、高速液体クロマトグラフィーの条件は下記によった。

カラム：CAPCELL PACK C<sub>18</sub>（6mm×150mm）（資生堂社製）

移動相：0.05%トリフルオロ酢酸を含む50%（v/v）アセトニトリル／水

カラム温度：40℃

検出UV波長：220nm

分析の結果、TKR1785-Iは、図5に示す位置に溶出されることが明らかとなった。

次に、TKR1785-IIの理化学的性質を述べる。

高速液体クロマトグラフィーに付し、得られた活性画分IIを減圧濃縮することにより得られた白色粉末精製物について、理化学的性質を調べた。本物質は、質量分析によるFAB-MS測定で、 $m/z$  532  $[\text{M}+\text{H}]^+$  であり、TKR1785-Iより14マス分子量が大きいことが判明した。また、塩酸加水分解後、アミノ酸分析にかけたところ、TKR1785-Iは、L-バリンを含有し

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

1 2

ているのに対し、本物質は、L-イソロイシンを含有していることが明らかとなった。紫外線吸収スペクトルは、TKR1785-Iとほとんど差がなかった。また、本物質の各種溶媒に対する溶解性も、TKR1785-Iとほとんど差がなかった。本物質の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル(図6)、<sup>13</sup>C-NMRスペクトル(図7)の結果を合わせて検討した結果、本物質は、式(IIb)の化学構造を有することが明らかとなった。

上記分析結果により、高速液体クロマトグラフィーに付し、得られた活性画分IIを減圧濃縮することにより得られた白色粉末精製物は、TKR1785-I Iであることが判明した。

TKR1785-I IをLC-10A型高速液体クロマトグラフィー装置(島津製作所社製)を用いたHPLCによる分析に供した。なお、高速液体クロマトグラフィーの条件は、上記TKR1785-Iを分析した場合と同一であった。分析の結果、上記TKR1785-I Iは、図8に示す位置に溶出されることが明らかとなった。

#### 実施例1 TKR1785-Iから化合物(1)の合成

TKR1785-I(10mg、19.4μmol)に6N-塩酸(6ml)を加え、110℃で15時間放置した。水冷下、反応液を2N-NaOH(18ml)で中和した後、6N-NaOH(4ml)を加えて水冷下1時間攪拌した。水冷下、2N-塩酸を用いて反応液のpHを6.5とした後、減圧濃縮した。残渣に再びH<sub>2</sub>Oを加え、これをクロロホルム(合計80ml)で抽出した。クロロホルム抽出液を減圧濃縮して、表1に示した化合物(1)の無色粉末を得た(6.3mg、94%)。

FAB-MS: m/z 346 (M+H)

薄層シリカゲルクロマトグラフィー(TLC)〔クロロホルム-メタノール-酢酸-水(8:3:1:1)〕: Rf 0.34

紫外吸収スペクトル(メタノール中): 末端吸収

#### 実施例2 TKR1785-Iから化合物(1)のラクトン体の合成

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

13

TKR1785-I (20 mg, 38.7  $\mu$ mol) に 6N-塩酸 (12 ml) を加え、110°C で 19 時間放置した。減圧濃縮後、調製用薄層シリカゲルクロマトグラフィー (TLC) [クロロホルム-メタノール-酢酸 (25:5:1) 溶液で展開及び抽出] で精製して表 1 に示した化合物 (1) のラクトン体を無色粉末として得た (5.5 mg)。

FAB-MS: m/z 328 (M+H)

TLC [クロロホルム-メタノール-酢酸-水 (8:3:1:1)]: Rf 0.65

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.48 (m, 1H)、3.55 (m, 1H)、3.47 (m, 1H)、2.79 (dd, 1H)、2.10 (d, 1H)、1.67 (m, 1H)、1.52 (m, 1H)、1.33 (m, 2H)、1.21 (s, 22H)、0.84 (t, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  (ppm): 176.5、81.8、66.7、50.1、38.2、36.2、31.3、29.1、29.0、28.9、25.1、22.1、13.9

### 実施例 3 化合物 (1) から化合物 (2) の合成

化合物 (1) (2 mg, 5.8  $\mu$ mol) をジオキサン (50  $\mu$ l) に溶解し、室温で Boc-ON (2.2 mg, 8.7  $\mu$ mol) 及びトリエチルアミン (Et<sub>3</sub>N) (1.6  $\mu$ l, 11.6  $\mu$ mol) を加えて室温で 10 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮した後、10%クエン酸水溶液を加え、これをクロロホルムで抽出した。クロロホルム抽出液を減圧濃縮後、残渣を調製用 TLC (クロロホルム-メタノール-酢酸 (25:5:1) 溶液で展開及び抽出) で精製して表 1 に示した化合物 (2) を無色粉末として得た (1 mg)。

FAB-MS: m/z 446 (M+H)

TLC [クロロホルム-メタノール-酢酸 (25:5:1)]: Rf 0.59

### 実施例 4 化合物 (3) の合成

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

14

化合物(1) (2 mg, 6.67  $\mu$ mol) をテトラヒドロフラン (THF) (5.5 ml) に溶解し、氷冷下攪拌しながら  $\text{LiAlH}_4$  (5 mg) を加えた。室温で22時間熱還流した後、反応液を氷冷し、攪拌しながらゆっくりエーテル (2 ml)、水 (0.5 ml)、1N NaOH水溶液 (0.5 ml) を順次加えた。30分間攪拌後、水を加え、エーテル (合計40 ml) 抽出した。エーテル抽出液を減圧濃縮して表1に示した化合物(3)の無色粉末を得た (2.2 mg)。

FAB-MS:  $m/z$  332 (M+H)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7.55 (br)、5.26 (br)、4.77 (br)、4.37 (br)、3.74 (br)、3.61 (br)、3.52 (m)、3.02 (m)、1.74 (m)、1.62 (m)、1.50 (d)、1.44 (m)、1.35-1.23 (m)、0.84 (t)

#### 実施例5 化合物(4)の合成

化合物(3) (10.0 mg, 30.02  $\mu$ mol) をジオキサン-水 (10 : 1300  $\mu$ l) に溶解し、室温で Boc-ON (11.5 mg, 45.3  $\mu$ mol) 及び N, N-ジイソプロピルエチルアミン (DIEA) (7.9  $\mu$ l, 45.3  $\mu$ mol) を加えて6時間攪拌した。反応液に酢酸エチルを加えて、10%クエン酸水溶液、飽和食塩水で順次洗浄した。酢酸エチル層を硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮した。これをTLC [クロロホルム-メタノール (19 : 1) 溶液で展開及び抽出] で精製して表1に示した化合物(4)の無色粉末を得た (8.5 mg)。

FAB-MS:  $m/z$  432 (M+H)

TLC [クロロホルム-メタノール (19 : 1)] : R<sub>f</sub> 0.2

#### 実施例6 化合物(5)の合成

化合物(4) (6.5 mg, 15.1  $\mu$ mol) を塩化メチレン ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (400  $\mu$ l) に溶解し、N, N-ジメチルアミノピリジン (DMAP) (



WO 98/40349

PCT/JP98/01038

15

1 mg)、NEt<sub>3</sub> (2.5 μl、18.1 μmol) 及び塩化 t-ブチルジメチルシリル (TBDMSCl) (2.5 mg、16.6 μmol) を加えて室温で16時間攪拌した。反応液をTLC [クロロホルム-メタノール (100 : 1) 溶液で展開及び抽出] で精製して表1に示した化合物 (5) の無色油状物を得た (7.5 mg)。

FAB-MS : m/z 546 (M+H)

TLC (クロロホルム-メタノール (100 : 1)) : Rf 0.5

#### 実施例7 化合物 (6) の合成

化合物 (5) (5.0 mg、9.16 μmol) をCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (500 μl) に溶解し、DMAP (2 mg) 及びBoc<sub>2</sub>O (5.9 mg、27.5 μmol) を加えて室温で18時間攪拌した。反応液をTLC [クロロホルム-メタノール (200 : 1) 溶液で展開及び抽出] で精製して表1に示した化合物 (6) の無色油状物を得た (6.0 mg)。

FAB-MS : m/z 747 (M+H)

TLC [クロロホルム-メタノール (200 : 1)] : Rf 0.8

#### 実施例8 化合物 (7) の合成

化合物 (6) (2.5 mg、3.35 μmol) にTHF-酢酸-水 (1 : 2 : 1, 5 ml) を加えて室温で17時間攪拌した。減圧濃縮後、TLC [クロロホルム-メタノール (50 : 1) 溶液で展開及び抽出] で精製して表1に示した化合物 (7) の無色油状物を得た (1.8 mg)。

FAB-MS : m/z 632 (M+H)

TLC [クロロホルム-メタノール (50 : 1)] : Rf 0.4

#### 実施例9 化合物 (8) の合成

化合物 (1) (5.0 mg、14.5 μmol) をアセトン (900 μl) に懸濁し、アセトンジメチルアセタール (150 μl) 及びd1-ショウノウスルホン酸 (1 mg) を加え、室温で1時間攪拌した。反応液をNEt<sub>3</sub> (10 μl

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

16

)で中和した後、減圧濃縮した。残渣をTLC〔クロロホルム-メタノール-水(8:3:1)の下層〕で精製して表1に示した化合物(8)の無色油状物を得た(収量2.8mg、収率51%)。

FAB-MS:  $m/z$  386 (M+H)

TLC〔クロロホルム-メタノール-水(8:3:1)の下層〕: Rf 0.4

#### 実施例10 化合物(9)の合成

化合物(8)(1.4mg、3.6 $\mu$ mol)をピリジン(100 $\mu$ l)に溶解し、氷冷下、塩化トリクロロエトキシカルボニル(1.5 $\mu$ l、10.9 $\mu$ mol)を加え、氷冷下、30分間攪拌した後、室温で1時間攪拌した。反応液をTLC〔クロロホルム-メタノール-水(8:3:1)の下層〕で精製して表1に示した化合物(9)を無色粉末として得た(収量1.0mg、収率4.2%)。

FAB-MS:  $m/z$  734 (M+H)

TLC〔クロロホルム-メタノール-水(8:3:1)の下層〕: Rf 0.6

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

17

表 1

$\begin{array}{c} Q^5 \quad Q^4 \quad OQ^3 \quad N(Q^2)-Q^1 \\ H_3C-(CH_2)_{12}-CH-CH-CH-CH-CH_2-X^1 \end{array} \quad (I)$							
		$Q^5$	$Q^4$	$Q^3$	$Q^2$	$Q^1$	$X^1$
化 合 物	(1)	OH	H	H	H	H	COOH
	(2)	OH	H	H	H	Boc	COOH
	(3)	OH	H	H	H	H	CH <sub>2</sub> OH
	(4)	OH	H	H	H	Boc	CH <sub>2</sub> OH
	(5)	OH	H	H	H	Boc	CH <sub>2</sub> OTBDMS
	(6)	Boc	H	Boc	H	Boc	CH <sub>2</sub> OTBDMS
	(7)	Boc	H	Boc	H	Boc	CH <sub>2</sub> OH
	(8)	OH	H	isopropylidene		H	COOH
	(9)	OH	H	isopropylidene		Troc	COOH
	(10)	(二重結合)		H	H	H	COOH
	(11)	(二重結合)		H	H	H	CH <sub>2</sub> OH

参考例 2 TKR1785-I の合成

スキーム 1 に示した方法に従って合成した。すなわち、Boc-NH-CH (CH<sub>2</sub>OH)CH<sub>2</sub>OBzl を出発原料として、HCl・H<sub>2</sub>N-CH (CH (CH<sub>3</sub>))<sub>2</sub>-CO-NH-CH (CH<sub>2</sub>OAc)-CH<sub>2</sub>OBzl を調製した。この化合物 (3.0 mg) と化合物 (9) (3.0 mg) との間で縮合反応を

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

18

行い、保護TKR1785-Iを得た(3.9mg)。これを常法に従って脱保護することによってTKR1785-Iを白色粉末として得た(1.2mg)。

FAB-MS: m/z 518 (M+H)

得られた最終産物を、培養液より単離精製したTKR1785-Iと比較するために、逆相分配高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による分析に供した。なお、HPLCの条件は下記によった。

カラム: CAPCELL PACK C<sub>18</sub> (6mm×150mm) (資生堂社製)

移動相: 0.05%トリフルオロ酢酸を含む50%(v/v)アセトニトリル/水

カラム温度: 40℃

検出UV波長: 220nm

その結果、合成品と天然物は、完全に同じ位置に溶出された。

更に、得られた最終産物をメタノールに1mg/mlとなるように溶解後、カンジダ・アルビカンス(*C. albicans*) TIMM0136株に対する抗菌活性(使用培地: イーストナイトロジェンベース(ディフコ社製) 0.67%、グルコース1%、寒天1.5%を含有する培地)をペーパードиск法(20μl/6mm径ろ紙)で測定したところ、明らかな生育阻止活性が観察された。

従って、化学合成により得られた物質は、TKR1785-Iと同一であることが判った。すなわち、化合物(1)は、TKR1785-Iを合成するための中間体として有用であることが明らかとなった。

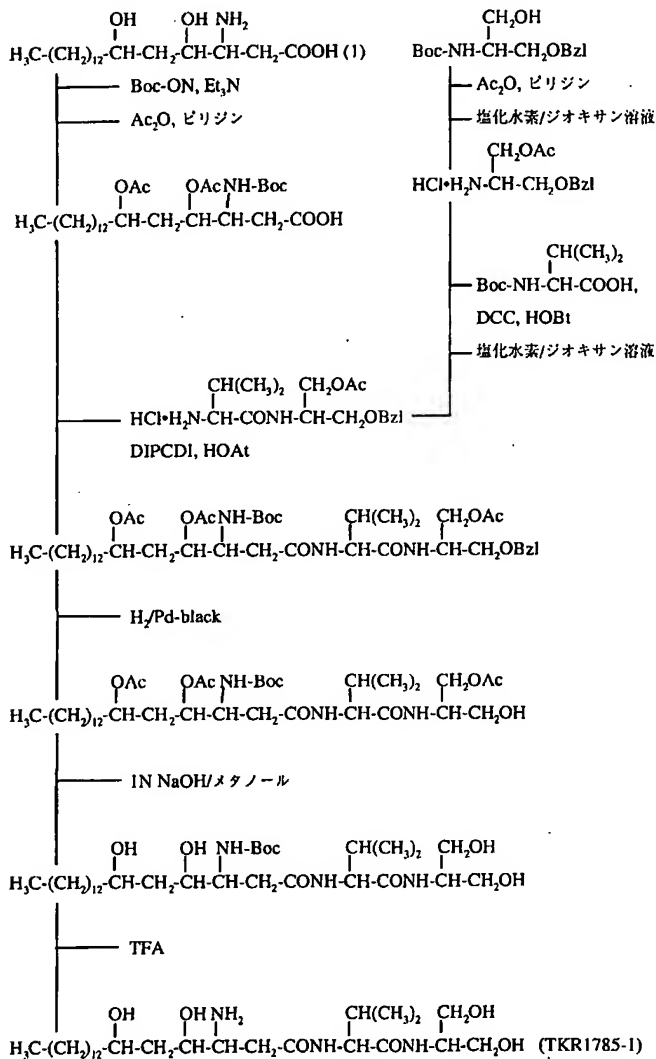
WO 98/40349

PCT/JP98/01038

1 9

表 2

(スキーム 1)



WO 98/40349

PCT/JP98/01038

2 0

#### 産業上の利用可能性

本発明により、真菌感染症、アレルギー疾患等の治療剤として有用な T K R 1 7 8 5 類又はその誘導体の合成中間体として有用であり、また、新規スフィンゴ脂質類縁体の合成中間体として有用な新規脂質並びにその製造方法を提供することができる。

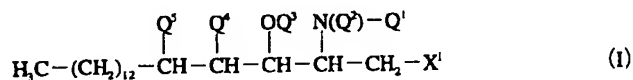
WO 98/40349

PCT/JP98/01038

2 1

## 請求の範囲

1. 下記一般式（I）で表されるスフィンゴシン類縁化合物。



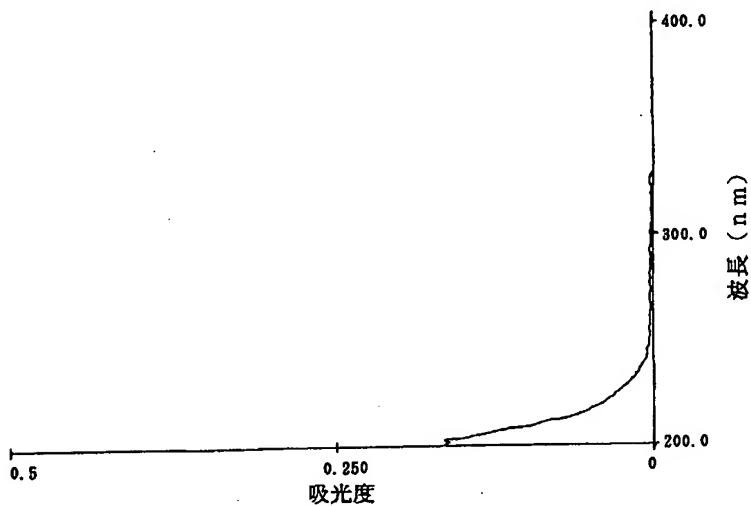
式中、 $\text{Q}^1$ 、 $\text{Q}^2$ 、 $\text{Q}^3$  は、 $\text{Q}^1$ 、 $\text{Q}^2$  が同一若しくは異なって、水素、炭素数1～4のアルキル基、炭素数2～5のアシル基若しくはアミノ基の保護基を表し、 $\text{Q}^3$  が水素若しくはヒドロキシル基の保護基を表すか、又は、 $\text{Q}^2$  と  $\text{Q}^3$  とが一緒になってイソプロピリデン基を表し、 $\text{Q}^4$  が水素若しくはアミノ基の保護基を表す。 $\text{Q}^4$ 、 $\text{Q}^5$  は、同一若しくは異なって、ヒドロキシル基、炭素数2～5のアシル基、 $-\text{O}-\text{Q}^6$  若しくは水素を表すか、又は、 $\text{Q}^4$  と  $\text{Q}^5$  とが一緒になって共有結合を表す。 $\text{Q}^6$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。 $\text{X}^6$  は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{CO}-\text{Q}^7$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 又は $-\text{CH}_2\text{O}-\text{Q}^8$ を表す。 $\text{Q}^7$  は、カルボキシル基の保護基を表し、 $\text{Q}^8$  は、ヒドロキシル基の保護基を表す。

WO 98/40349

PCT/JP98/01038

1 / 8

図 1



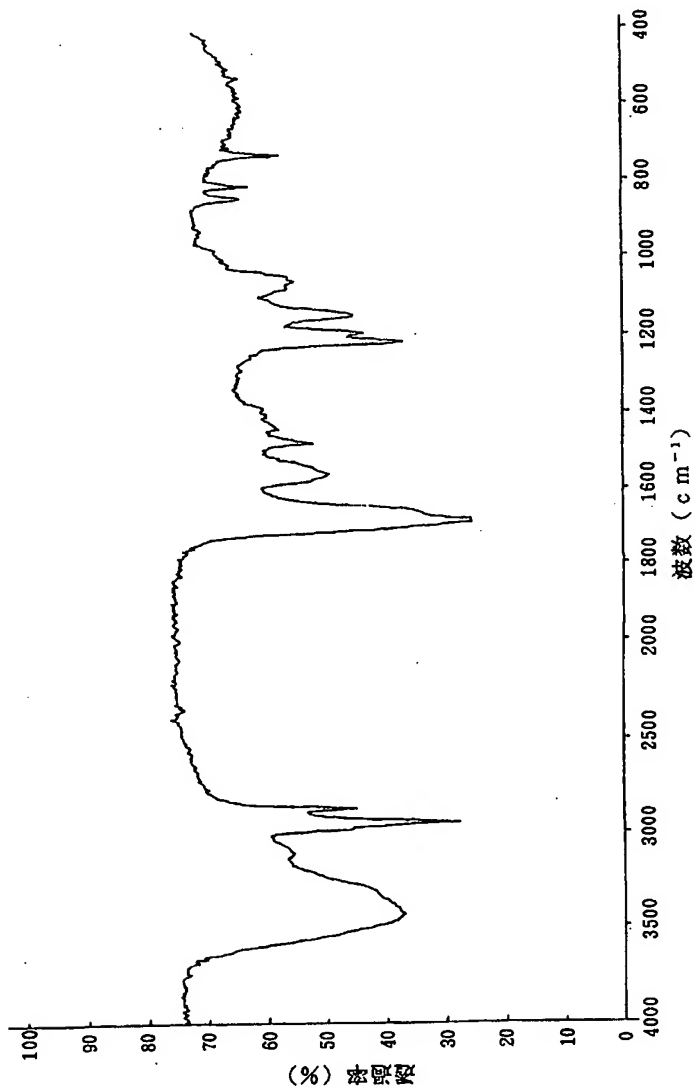


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

2 / 8

図 2

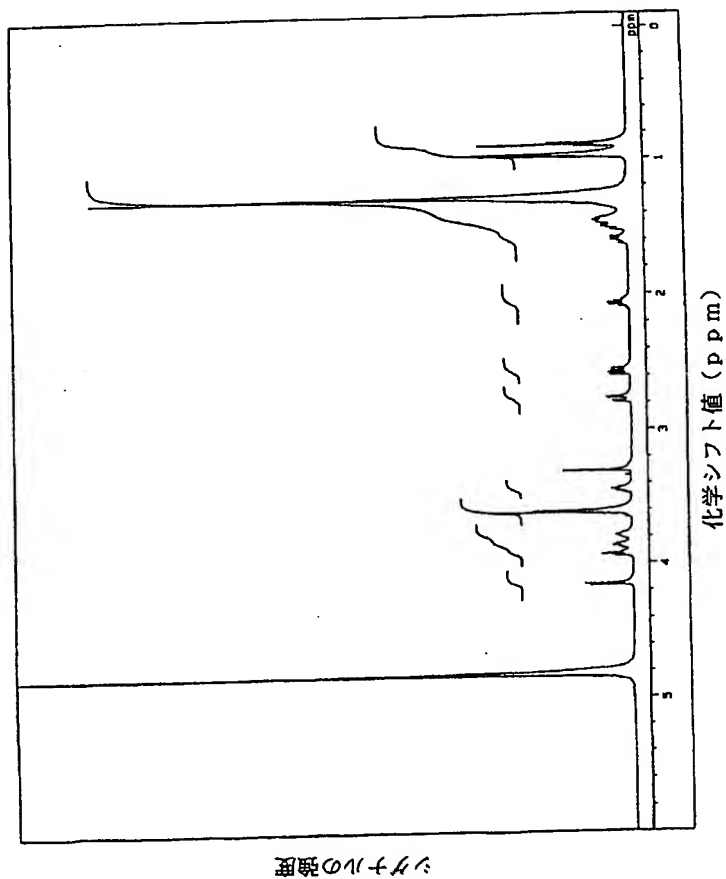


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

3 / 8

図 3

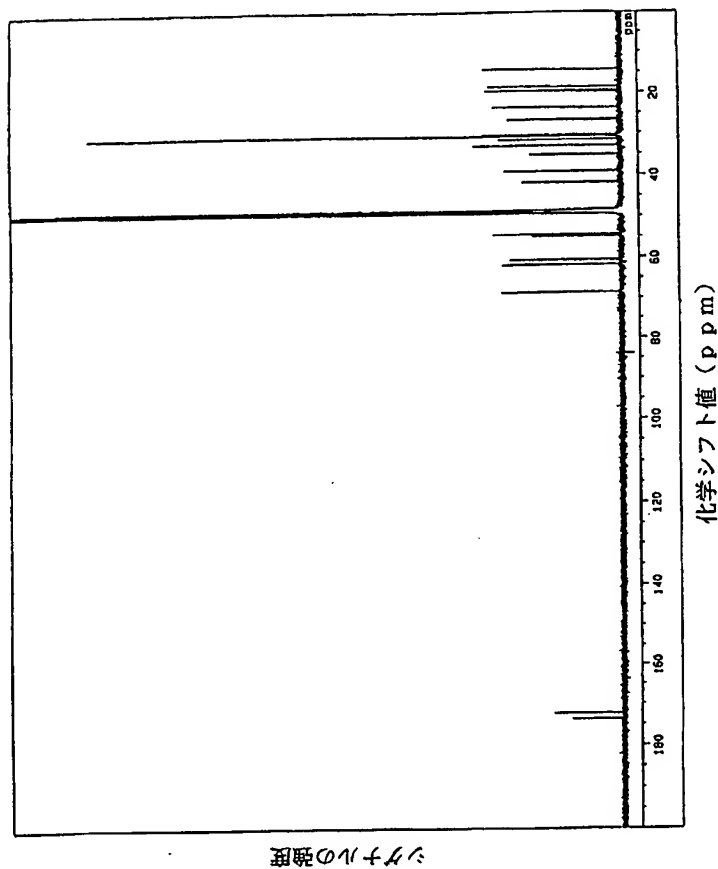


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

4 / 8

図 4

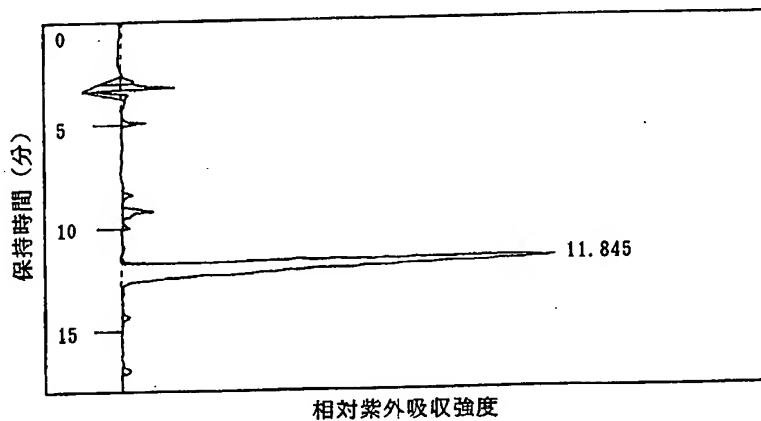


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

5 / 8

図 5

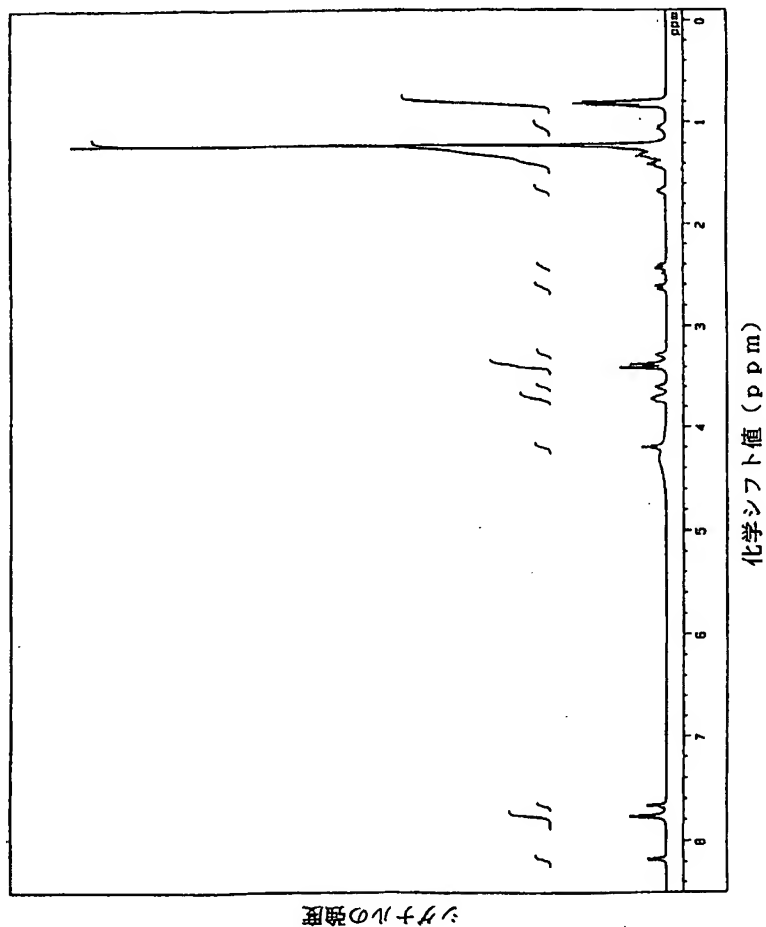


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

6 / 8

図 6

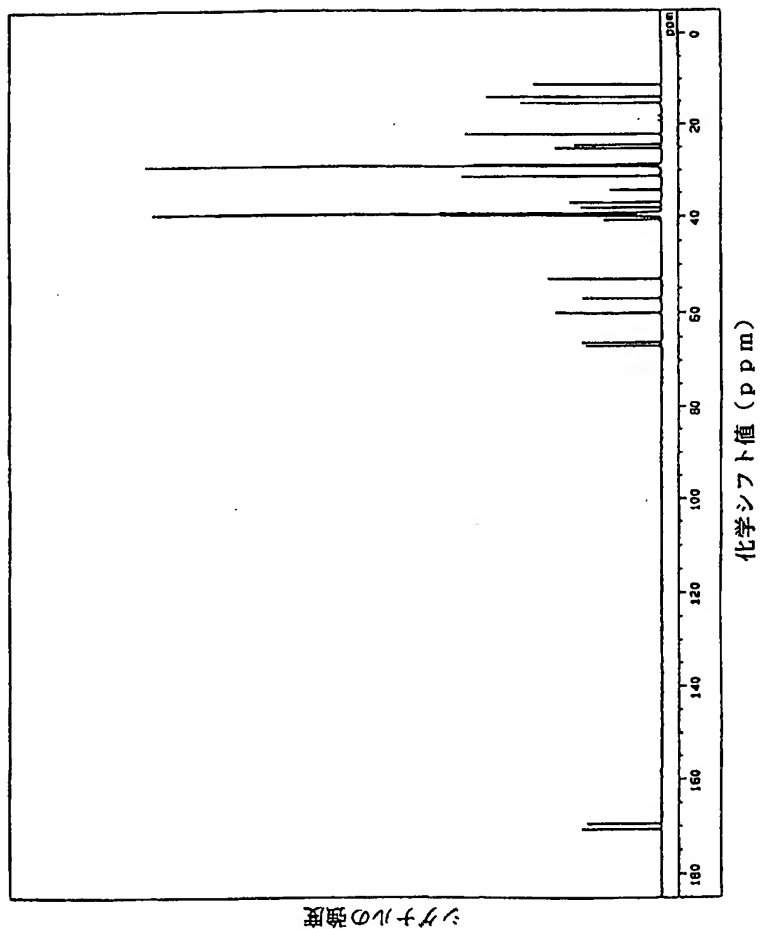


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

7 / 8

図 7

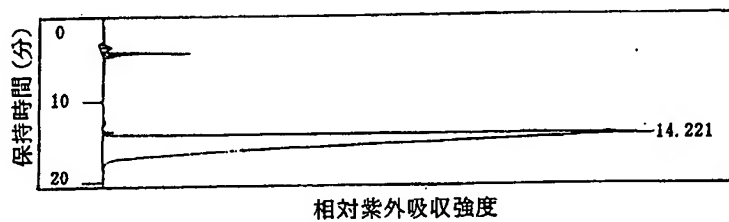


WO 98/40349

PCT/JP98/01038

8 / 8

図 8



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/01038

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> Int.Cl. <sup>6</sup> C07C215/10, C07C229/22, C07C271/22, C07C215/24, C07C229/30, C07D263/06 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl. <sup>6</sup> C07C215/10, C07C229/22, C07C271/22, C07C215/24, C07C229/30, C07D263/06 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) REGISTRY (STN), CA (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 62-138497 (The Institute of Physical and Chemical Research), June 22, 1987 (22. 06. 87) (Family: none)	1
A	TAMOWSKI, Andrej et al., "Efficient Synthesis of Sphingosine-1-phosphonate and Homo-sphingosine-1-phosphonate", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 4 March 1997, Vol. 7 No. 5, pp.573-576	1
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search June 29, 1998 (29. 06. 98)		Date of mailing of the international search report July 7, 1998 (07. 07. 98)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.



国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 98/01038	
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))			
Int. Cl <sup>8</sup> C07C215/10, C07C229/22, C07C271/22, C07C215/24, C07C229/30, C07D263/06			
B. 調査を行った分野			
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))			
Int. Cl <sup>8</sup> C07C215/10, C07C229/22, C07C271/22, C07C215/24, C07C229/30, C07D263/06			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)			
REGISTRY (STN) CA (STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	
A	JP, 62-138497 (理化学研究所) 22. 6月. 1987 (22. 06. 87) (ファミリーなし)	1	
A	TAMOWSKI, Andrej et al., "Efficient Synthesis of Sphingosine-1-phosphonate and Homo-sphingosine-1-phosphonate," Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 4 March 1997, Vol. 7 No. 5, pp. 573-576	1	
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたものの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 29. 06. 98		国際調査報告の発送日 07.07.98	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 脇村 善一 電話番号 03-3581-1101 内線 3443	